Nicht einzeln im Buchhandel käuflich.

20

Abdruck

aus dem

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde.

Originale

In Verbindung mit

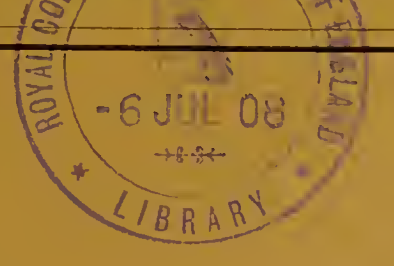
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun
Greifswald Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 15. Nachodstr. 17[II]

XXXXII. Band. 1906.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Abdruck aus dem
Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
I. Abteilung. Originale.
Herausgeg. von Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin. — Verlag von Gust. Fischer in Jena.
XLII. Bd. 1906. Heft 4.

Ueber ein Anticholeraserum.

Von **Allan Macfadyen**, M. D., London.

Es wird allgemein anerkannt, daß die Symptome von Cholera asiatica durch eine akute Vergiftung mit gewissen Produkten des spezifischen Erregers bedingt sind, den Kommabacillus von Koch. Ferner, daß diese Symptome nicht die Folge einer allgemeinen Infektion des Körpers sind, sondern einer Absorption des Giftes am Ort der Ansteckung, dem Darm.

Der Charakter des spezifischen Giftes ist natürlich der Gegenstand vieler Untersuchnngen geworden, sowohl um es zu isolieren, als auch um eine Serumtherapie der Krankheit zu begründen.

Es gilt als aussichtslos, Cholerafälle mit einem reinen bakteriziden Serum zu behandeln. Die Serumtherapie der Cholera, wenn sie überhaupt gelingen sollte, muß sich auf eine antitoxische Basis stützen, wenn man an das klinische Bild der Krankheit denkt. Dies wird auch allgemein anerkannt von Allen, die versucht haben, eine spezifische Behandlung der Krankheit einzuführen.

Um Gifte von Kulturen des Kommabacillus zu bekommen, hat man eine Reihe von Versuchen gemacht. Zwei Theorien, scheinbar widersprechend, sind in Bezug auf die Natur des spezifischen Giftes entstanden und haben Anlaß zu manchem Streit und zu Meinungsverschiedenheiten gegeben. Es wird behauptet, besonders von französischen Beobachtern, daß das Gift ein echt sezerniertes Produkt des Bacillus in vita und in vitro ist und extracellulär in dem Sinne, daß es diffundierbar und löslich ist. Andere, und hauptsächlich deutsche Bakteriologen, behaupten, daß das Gift der Zelle eigen und deshalb von intracellulärem Typus ist.

Der Standpunkt hat entschieden, welche Untersuchungsmethoden gewählt wurden. Die Verteidiger eines extracellulären Giftes versuchten ein sezerniertes Produkt durch Züchtung der Bacillen in flüssigem Nährboden zu bekommen, während jene, die das Gift für intracellulär hielten, mit den getöteten und unzweifelhaft giftigen Leibern der Bacillen arbeiteten.

Man wird gestatten, die Hauptresultate kurz zu erwähnen, da die meisten 10 Jahre zurückdatieren.

Unter den früheren Beobachtern hat Petri (1) die Kommabacillen auf Peptonnährboden gezüchtet und ein hitzebeständiges Protein, von ihm „Toxopepton" genannt, erhalten. Die ganzen Kulturen waren aber giftiger als die erhaltenen Filtrate. Hueppe und Scholl (2) züchteten die Bacillen in Eiern und erhielten ein Gift durch Fällung mit Alkohol. Später wurde aber gezeigt, daß die toxische Wirkung nicht von einem spezifischen Gifte bedingt wurde.

Gamaleia (3) war nach seinen Untersuchungen überzeugt, daß es mehrere Choleratoxine gibt. Die Kommabacillen, auf Kalbsfußbouillon gezüchtet, gaben zwei lösliche Gifte, das eine — thermolabil — verursachte Durchfall bei Kaninchen, das andere — thermostabil — eine Vergiftung, aber ohne Diarrhöe. Die Dosen, um diese Wirkungen zu produzieren, waren beträchtlich. Behring und Ransom (4) haben ein von flüssigen Kulturen gewonnenes lösliches Gift beschrieben, das hitze-

beständig und für Meerschweinchen in konzentrierten Dosen akut toxisch war. Man kann schwerlich annehmen, daß es sich um ein primäres Gift handelte, eher um abgebaute Produkte des ursprünglichen Giftes. Das Serum, welches mit dem Gift dargestellt wurde, schien nicht sehr ausgeprägte antitoxische Eigenschaften besessen zu haben, was wahrscheinlich auf die geringe Toxizität des Giftes zurückzuführen sind.

Die wichtigen Untersuchungen von Metschnikoff, Roux und Salimbeni (5) sind hier besonders zu erwähnen. Hochvirulente Cholerakulturen, durch intraperitoneale Züchtung in Kollodionsäckchen erhalten, waren auf einem besonderen Nährboden — 2 Proz. Pepton, 2 Proz. Gelatine und 1 Proz. Kochsalz enthaltend — gezüchtet. Die Kulturen erhielten ihre Maximumtoxizität den 4. Tag und wurden dann filtriert.

Das Filtrat war subkutan für Meerschweinchen giftig — durchschnittlich 0,3 ccm per 100 g Tier.

Das Gift, ähnlich dem von Behring und Ransom, war gegen Kochen unempfindlich, aber leicht durch Licht und Luft zerstört. Das Meerschweinchen war das empfindlichste Tier, andere, wie z. B. Kaninchen, brauchten größere Dosen. Das Gift wirkte subkutan und peritoneal und verursachte Hypothermie, Peritonitis, diarrhöische Erscheinungen und Hyperämie der Bauchorgane. Diese Resultate scheinen einfach und entscheidend zu sein im Sinne eines sezernierten Giftes der Cholerabacillen, können aber auch in der Weise erklärt werden, daß es sich in der Tat um toxische Bestandteile der Kommabacillen handelte, die durch Autolyse und Auflösung der Zellen frei geworden waren. Die Sterblichkeit der Vibrionen, selbst in jungen Kulturen, ist eine hohe. Gotschlich und Weigang (6) konstatierten, daß in 2-tägigen Kulturen bei 37° C nur ungefähr 10 Proz. der Kommabacillen lebendig waren und den 3. Tag höchstens 1 Proz. Es bleibt deshalb zweifelhaft, ob die so erhaltenen Gifte genuine lösliche Toxine repräsentierten und auch ob sie identisch mit dem Gifte der Infektion waren.

Pfeiffer (7) ist der hervorragendste Vertreter in Bezug auf die intracelluläre Natur des Choleragiftes. Die Giftigkeit von jungen, filtrierten Kulturen ist gering. Auf der anderen Seite sind vorsichtig getötete junge Agarkulturen akut giftig in derselben Weise wie die lebendigen Kulturen.

Dies ist durch die sorgfältigsten Versuche von Pfeiffer gründlich demonstriert. Es läßt sich nicht bezweifeln, daß das primäre Choleragift, mit der Zelle innig verbunden, sehr empfindlich ist und sich leicht in sekundäre und weniger toxische Modifikationen überführen läßt. Um dieses Gift zu demonstrieren, muß man deshalb eine schonende Technik gebrauchen. Spätere Untersuchungen haben die respektiven Standpunkte nicht wesentlich modifiziert, ausgenommen, daß Pfeiffers Schlußfolgerungen die weiteste Annahme gefunden haben.

Seit 1896 haben weder Behring und Ransom noch Metschnikoff und seine Kollegen, so weit ich weiß, weitere Mitteilungen gemacht. Man darf deshalb annehmen, daß die Resultate ihre Erwartungen nicht erfüllt haben.

Während durch verschiedene Methoden sich toxische Elemente in Cholerakulturen nachweisen lassen, sind die Filtrate weniger toxisch als das Ausgangsmaterial und haben unbefriedigende immunisierende Resultate geliefert. Das Kennzeichen eines wirksamen Toxins ist die Erzeugung eines kräftigen Antitoxins. Von diesem Standpunkt betrachtet,

haben die bis jetzt beschriebenen löslichen Choleragifte unbefriedigende Resultate gegeben.

Dies wird evident durch Betrachtung der immunisierenden Versuche von Metschnikoff und seinen Kollegen. 2 Pferde bekamen subkutan das lösliche Gift in einer Anfangsdosis von 10 ccm. Nach 6 Monaten waren die Pferde im stande, 200 ccm zu vertragen. Die Injektionen waren mit merklichen Lokalreaktionen verbunden.

Das Serum mit dem filtrierten Toxin gemischt und Meerschweinchen subkutan injiziert, ergab folgende Resultate: Nach 3-monatlicher Behandlung und Injektion von 350 ccm neutralisierten 3 ccm des Serums $1\frac{1}{2}$ tödliche Dosen des filtrierten Toxins. Nach 6-monatlicher Behandlung und Injektion von 950 ccm Toxin neutralisierte 1 ccm Serum 4 tödliche Giftdosen. Die Zahlen sind ein Beweis, daß das Gift sowohl als auch das Serum schwache immunisierende Eigenschaften besaßen. Das Toxin wurde ebenfalls von dem Behring-Ransom-Serum neutralisiert.

Das von Pfeiffer durch Injektionen der Bakterienleiber gewonnene Serum besaß hohe bakteriolytische, aber keine demonstrierbare antitoxische Eigenschaften — es schützte nicht gegen die toten und toxischen Leiber der Kommabacillen.

Während es deshalb anerkannt wird, daß ein Choleraserum antitoxische Eigenschaften besitzen muß, hat Pfeiffers Serum diese nicht gezeigt, und Metschnikoffs Serum hat die Wirkung von normalem Serum eben nach einer längeren Immunisierungsperiode nicht sehr auffallend überschritten. Schließlich ist die Möglichkeit, einen Antikörper für jenes primäre Gift, das als integrierender Bestandteil der Choleraorganismen existiert, herzustellen, eine Streitfrage geblieben und wird als unausführbar von vielen kompetenten Bakteriologen betrachtet.

Es war mit der Zweck, ein definitives Resultat, entweder im positiven oder negativen Sinne, zu bekommen, daß die folgenden Untersuchungen von mir unternommen wurden.

Wie ich schon in einer vorigen Mitteilung (8) über ein antiendotoxisches Typhusserum kurz erwähnt habe, sind die Versuche mit dem Choleraendotoxin auch gelungen.

Die Gefriermethode ergab die günstigsten Bedingungen, um das Choleraendotoxin direkt aus der lebendigen Zelle zu gewinnen und seine Eigenschaften zu studieren. Zu diesem Zwecke wurden virulente Kulturen verwendet. Die Organismen wurden auf Nähragar in Roux-Flaschen gezüchtet, eine wässerige Emulsion des 18-stündigen Wachstums gemacht und in einer Zentrifuge gewaschen. Die ausgeschiedenen Mikroben wurden bei der Temperatur der flüssigen Luft zerkleinert und das Produkt in 1 : 1000 Kalilauge aufgenommen. Nach dem Zentrifugieren bekam man eine klare obere Schicht, aus einem 10-proz. Extrakt der Bacillen bestehend.

Diese wurde abpipettiert und sehr rasch mit Chloroformdampf behandelt. Die Zellsäfte waren steril und akut toxisch. Die quantitative Ausbeute war ziemlich konstant und betrug ungefähr 10 mg fester Substanz pro Kubikcentimeter. Es war deshalb möglich, irgend einen Parallelismus zwischen der Virulenz und der Toxizität der Kulturen zu konstatieren — eine Frage von theoretischer und praktischer Wichtigkeit. Man kann sofort sagen, daß hochvirulente Kulturen die am meisten toxischen Zellsäfte lieferten und die von niedriger Virulenz die am wenigsten, und in den Fällen, wo die Virulenz so gesunken war, daß 2 Oesen ein Meerschweinchen nicht töteten, war die Toxizität der er-

haltenen Säfte entsprechend vermindert, indem 0,5 ccm und manchmal 1 ccm nicht tötete, während durchschnittlich $^1/_{10}$ ccm von virulenten Kulturen akut toxisch war. Was das Choleraendotoxin betrifft, so sind Virulenz und Toxizität eng verwandt, indem erhöhte Virulenz erhöhte Toxizität bedeutet und umgekehrt. Diese Beobachtung erklärt vielleicht abweichende Resultate, die verschiedene Beobachter erhalten haben. Jedenfalls rechtfertigt sie die Benutzung von virulenten Kulturen, die ich in meinen Untersuchungen auf die Endotoxine von Cholera und anderen pathogenen Mikroorganismen gemacht habe. Die Schwankungen in der Toxizität der Cholerasäfte halte ich im ganzen für abhängig von Schwankungen in der toxischen Qualität des Materials. Der Index für eine gute Ausbeute an Toxin ist die Virulenz der gegebenen Kultur und sie ändert sich, trotz aller Mühe unter Laboratoriumsbedingungen, manchmal erheblich. Es ist ein störender Faktor in den experimentellen Arbeiten über Cholera.

Toxizität der Zellsäfte. Von den hochvirulenten Kulturen waren die Säfte für Meerschweinchen in Dosen von $^1/_{10}$ und $^1/_{20}$ ccm intraperitoneal giftig, während $^1/_{50}$ ccm die Tiere krank machte. Durchschnittlich war $^1/_{10}$ ccm die tödliche Dosis für Meerschweinchen von 300 g. Von Kulturen von noch niedrigerer Virulenz war die Toxizität der Säfte 0,3—0,5 ccm und bei sehr schwacher Virulenz war 0,5 ccm und manchmal mehr nötig, um die Tiere zu töten.

Das Endotoxin wirkte auch subkutan und mit denselben Erscheinungen wie peritoneal — Peritonitis, Hyperämie der Bauchorgane und Blutungen im Magen. Die Resultate waren nicht so konstant wie die, welche man durch kleinere peritoneale Dosen erhielt.

Das Endotoxin war intravenös, für Kaninchen akut giftig. Die Symptome waren Ohnmacht, ungefähr $^3/_4$ Stunde nach der Einspritzung, heftiger Durchfall, Hypothermie und Tod manchmal binnen 1 Stunde. Von den hochvirulenten Kulturen waren $^1/_{20}$ und $^1/_{10}$ ccm der Zellsäfte tödlich, durchschnittlich betrug die tödliche Dosis 0,3—0,5 ccm. Die filtrierten Säfte waren gleichfalls giftig, z. B. 0,2 und 0,5 ccm des filtrierten Saftes töteten Kaninchen. Das Kaninchen war toleranter für subkutane Injektionen — 1, 2 und 3 ccm töteten nicht, aber verursachten lokale Reaktionen und Induration.

Bei Meerschweinchen erhielt man gleichmäßigere Resultate, deshalb wurden sie hauptsächlich zu Serumprüfungen benutzt.

Für Ziegen war das Endotoxin von hoher Giftigkeit. Eine Ziege starb binnen 12 Stunden nach Injektion von $^1/_{10}$ ccm (1 mg). Eine zweite Ziege entwickelte hartnäckige Diarrhöe nach einer Dosis von $^1/_{100}$ ccm ($^1/_{10}$ mg). In 3 anderen Fällen machten $^1/_{100}$ ccm die Tiere krank, während $^1/_{80}$ und $^1/_{50}$ ccm akute Diarrhöe und Tod verursachte. Diese Beispiele illustrieren die akute Wirkung des Choleraendotoxins, wenn man es in den Blutstrom eines empfindlichen Tieres einführte — $^1/_{10}$ mg toxische Effekte verursachend.

Die aufbewahrten Säfte verlieren an Toxizität und werden leicht durch Hitze modifiziert, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist:

Toxischer Cholerazellsaft.

	$^1/_2$ Std. bei 55° C		$^1/_2$ Std. bei 60° C		Nicht erhitzt	
Meerschweinchen	1 ccm	lebt	1 ccm	lebt	1 ccm	tot
"	0,5 "	"	0,5 "	"	0,5 "	"
"	0,3 "	"	0,3 "	"	0,3 "	"

Die Toxizität der obigen Mengen war nach $1/2$ Stunde bei 55° und 60° C vernichtet, analog dem Typhusendotoxin, das unter denselben Bedingungen erhalten war. Die löslichen Toxine von Ransom und Metschnikoff waren unempfindlich gegen Kochen.

Immunisierungsversuche. Die Versuche wurden mit Kaninchen und Ziegen ausgeführt. Das normale Serum besitzt keine auffallende Wirkung auf die unmittelbar von der Cholerazelle gewonnenen Toxine, z. B. schützte 1 ccm nicht gegen zwei tödliche Dosen.

Die Kaninchen erhielten die Zellsäfte subkutan und waren tolerant gegen beträchtliche Mengen. In einem Falle wurden 1, 2, 3 und 5 ccm wöchentlich eingespritzt und das Serum titriert. Das Serumtoxingemisch wurde nach $1/2$ Stunde bei 37° C mit folgenden Resultaten Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt:

Kaninchenserum.

Meerschweinchen	Serumtoxingemisch	Resultat
1	2 ccm Toxin + 2 ccm Serum	lebt
2	2 „ „ + 1 „ „	„
3	2 „ „ + $1/2$ „ „	„
4	1 „ „ + 2 „ „	„
5	1 „ „ + 1 „ „	„
6	1 „ „ + $1/2$ „ „	„
7	1 „ „ + 2 „ Normalserum	tot
8	0,2 „ „	„

1 ccm Gift enthielt 5 ermittelte Giftdosen. Das Serum hat also deutliche antiendotoxische Eigenschaften erworben, indem $1/2$ ccm 10 tödliche Dosen neutralisiert, während 1 ccm Normalserum nicht im stande war, 2 Giftdosen zu neutralisieren.

Mit anderen Kaninchen bekam man nach kurzer Immunisierung ähnliche Resultate, z. B. schützte, in zwei Instanzen probiert, $1/20$ ccm gegen 3 und $1/50$ ccm gegen 2 ermittelte Giftdosen.

Durch diese Versuche ließ sich anfangs das Erzeugen eines Antikörpers für das Choleraendotoxin beweisen und ferner erklären, daß man es mit einem wirksamen Toxin zu tun hatte.

Die weiteren Versuche wurden intravenös an Ziegen ausgeführt. Dieses Tier ist, wie schon angedeutet, sehr empfindlich gegen das Choleratoxin, und eine vorsichtige Dosierung für eine gelungene Immunisierung nötig.

Eine Ziege bekam jeden 7. Tag intravenös $1/100$, $1/50$, $1/10$, $1/20$ und $1/5$ ccm des toxischen Materials. Das Tier wurde nach der ersten Einspritzung krank und die folgenden verursachten deutliche Reaktionen. Nach der sechsten Injektion wurde das Serum probiert.

Ziege I.

Meerschweinchen	Serumtoxingemisch	Resultat
1	2 ccm Toxin + 2 ccm Serum	lebt
2	2 „ „ + 1 „ „	tot
3	2 „ „ + $1/2$ „ „	lebt
4	1 „ „ + 2 „ „	„
5	1 „ „ + 1 „ „	„
6	1 „ „ + $1/2$ „ „	„

1 ccm des Zellsaftes enthielt 4 ermittelte Giftdosen und $1/2$ ccm des Serums schützte gegen 8 tödliche Giftdosen. Das Normalserum schützte nicht gegen 2 Giftdosen.

Eine zweite Ziege wurde vorsichtig und für eine längere Periode immunisiert und eine Toleranz für sonst tödliche Giftdosen etabliert. Die Menge der wöchentlichen Einspritzungen betrug: $^1/_{100}$, $^1/_{100}$, $^1/_{50}$, $^1/_{50}$, $^1/_{50}$, $^1/_{30}$, $^1/_{30}$, $^1/_{20}$, $^1/_{20}$, $^1/_{20}$, $^1/_{15}$, $^1/_{15}$, $^1/_{15}$, $^1/_{12}$, $^1/_{12}$ und $^1/_3$ ccm.

Die Ziege wurde nach den ersten Einspritzungen von $^1/_{100}$, $^1/_{30}$, $^1/_{20}$ und $^1/_{15}$ ccm krank. Die injizierte Gesamtmenge war ungefähr 1 ccm oder 10 mg von fester Substanz. Die Behandlung erstreckte sich über 4 Monate und am Ende dieser Periode lebte das Tier und blieb gesund.

Bei dieser Ziege wurde ihr Serum immer gegen dieselbe Menge Zellsäfte probiert, nämlich 1 ccm und 3—5 ermittelte Giftdosen enthaltend. Die folgende Tabelle repräsentiert die so gewonnenen Resultate:

Ziege II.

Ziege Blutprobe	Toxin Ermittelte Dosen	Serum Menge	Meerschweinchen Resultat
Nach 6 Einspritzungen	3	$^1/_{10}$ ccm	lebt
„ 6 „		$^1/_{20}$ „	„
„ 6 „		$^1/_{50}$ „	„
Nach 13 Einspritzungen	5	$^1/_{10}$ ccm	lebt
„ 13 „		$^1/_{20}$ „	„
Nach 14 Einspritzungen	3	$^1/_{20}$ ccm	lebt
„ 14 „		$^1/_{20}$ „	„
„ 14 „		$^1/_{50}$ „	„
„ 14 „		$^1/_{50}$ „	„
„ 14 „		$^1/_{100}$ „	„
„ 14 „		$^1/_{100}$ „	„
Nach 15 Einspritzungen	3	$^1/_{200}$ ccm	lebt
„ 15 „		$^1/_{200}$ „	„
„ 15 „		$^1/_{400}$ „	„
„ 15 „		$^1/_{400}$ „	„
„ 15 „		$^1/_{500}$ „	„
„ 15 „		$^1/_{500}$ „	„

Es waren deshalb bestimmte antiendotoxische Eigenschaften in dem Ziegenserum vorhanden, in dem Maße, daß $^1/_{500}$ ccm 3 ermittelte Giftdosen neutralisierten, während 1 oder 2 ccm Normalserum diese antitoxische Fähigkeit nicht besaßen.

Die Schutzwirkung des Serums wurde auch bei Kaninchen probiert und auch intravenös wirksam befunden, z. B. $^1/_{50}$ Serum neutralisierte intravenös 3—4 Giftdosen und durch andere Proben wurden ähnliche Resultate erzielt. Da die Versuche ihren Zweck erreicht hatten, so habe ich sie vorläufig nicht weiter fortgesetzt, obwohl ich nicht zweifle, daß man noch höhere Serumwerte erhalten kann.

Die Versuche haben den Beweis geliefert, daß es gelingt, durch die gegebene Methode einen Antikörper für das Choleraendotoxin zu gewinnen, und auch die Möglichkeit, den immunisierenden Wert des Serums in deutlicher Weise zu steigern.

Es bleibt noch hinzuzufügen, daß das Ziegenserum auch Agglutinine und Bakteriolysine enthielt, z. B. $^1/_{2000}$ ccm agglutinierte die Cholerabacillen und $^1/_{1000}$ ccm gab Pfeiffers Reaktion. Die Versuche in dieser Richtung wurden nicht weiter geführt, als nötig war, um das Vorhandensein dieser Körper zu konstatieren.

Die Experimente beweisen:

1) daß akut toxische Zellsäfte von kräftigen immunisierenden Eigenschaften von den Choleraorganismen durch die angewandte Methode sich gewinnen lassen;

2) daß man einen Antikörper gegen jenes primäre Gift, welches als ein integrierender Bestandteil des Kommabacillus existiert, erzeugen kann, eine Tatsache, welche von vielen Seiten für unmöglich gehalten wird;

3) daß man eine Steigerung der Immunität erzeugen kann, was von gleicher Wichtigkeit ist;

4) daß das Serum außer antiendotoxischen auch agglutinierende und bakteriolytische Eigenschaften besaß;

5) daß in dem Falle des Choleraorganismus eine enge Beziehung zwischen seiner Virulenz und Giftigkeit existiert;

6) daß das erhaltene Choleraendotoxin thermolabil ist und leicht bei 55° und 60° C vernichtet wird.

London, Juli 1906.

Literatur.

1) Petri, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. VI. 1890.
2) Hueppe, Deutsche med. Wochenschr. 1891. p. 417. — Scholl, Arch. f. Hyg. 1892. p. 172.
3) Gamaleia, Arch. de méd. expér. 1892. p. 172.
4) Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1895. p. 457. — Behring, Ibid. 1898. p. 294.
5) Metschnikoff, Roux et Salimbeni, Annal. Pasteur. T. X. 1896. p. 257.
6) Gotschlich und Weigang, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895. p. 376.
7) Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. p. 393, Bd. XV. p. 268, Bd. XX. p. 217, Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 7 u. 8.
8) Macfadyen, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLI. Heft 2.
9) Kraus und Prantschoff, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLI. Heft 3 u. 4

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena